

者认为 TPPA 操作较复杂,试剂昂贵,结果判断难以自动化,不适合大规模的血液筛查。

ELISA 是利用重组梅毒螺旋体的特异性抗原包被酶标板孔,并采用双抗原夹心法检测血清标本中的梅毒特异性抗体,对梅毒各期的检出率都较高。本研究表明 ELISA 有很高的敏感性和特异性,分别为 98.9%和 90.9%,与 TPPA 非常接近。而 ELISA 操作标准简便,通过酶标仪可直接读取数据,克服了肉眼难以判断结果的缺点,减少了人为操作和判断失误,价格适中,而且本研究证实不存在 ELISA 阴性而 TPPA 阳性的标本,即 ELISA 的假阴性率很低,本研究的假阴性率仅为 1.1%,与文献^[5]报道基本一致。因而笔者认为 ELISA 适合手术前检查和输血等大批量样本的筛查试验。

TPPA 和 ELISA 两种特异性方法的比较:对 133 例 ELISA 阳性和 150 例 ELISA 阴性的标本进行 TPPA 检测时发现 8 例 ELISA 阳性而 TPPA 阴性,并对 8 例患者进行临床追踪调查,发现 3 例为肝炎,2 例为妊娠孕妇,1 例为肿瘤,2 例为类风湿性关节炎,没有梅毒患者。这表明 ELISA 法存在假阳性,但没有发现 ELISA 阴性而 TPPA 阳性的标本。因此笔者认为对手术前检查和输血等大批量样本的筛查试验时,若 ELISA 检测为阳性时应进一步做 TPPA 确认,而对

ELISA 检测阴性的标本不需要再做 TPPA 确认。

通过上述三种方法的比较,笔者认为 TRUST 与 ELISA、TPPA 是不同的检测方法,特异性和敏感性与 ELISA、TPPA 无可比性。但 TRUST 可判断梅毒患者的病情,而 ELISA、TPPA 不适合对梅毒病情的判断。因而临床医生应根据病人不同情况开不同的检查单,避免增加病人的经济负担。

梅毒检测各种方法操作较简单,各级医院均可开展,而且每所医院实验室同时可开展多种检测方法,为了避免梅毒的漏报和误报,避免同一病人在同一实验室出现不同的实验结果,我们建议每个实验室都应建立一套完整的、统一的梅毒实验室报告系统。

4 参考文献

- [1] 程艳杰,王广杰,王旭,等.梅毒螺旋体血清学检测方法的实验室评价[J].中国皮肤性病学杂志,2005,19(8):504.
- [2] 周萍.不同检测方法对梅毒检测结果比较[J].淮海医药,2005,23(1):27.
- [3] 何浩明,姜建平,秦建萍.现代检验医学与临床[M].上海:同济大学出版社,2001:264.
- [4] 程艳杰,王广杰,王旭,等.梅毒螺旋体血清学检测方法的实验室评价[J].中华检验医学杂志,2006,29(3):272.
- [5] 刘保林.ELISA 与 RPR 法检测梅毒抗体结果分析[J].中国误诊学杂志,2005,5(13):2493-2494.

(收稿:2006-09-15 修回:2006-10-18)

ELISA 检测甲胎蛋白结果判定中应注意的问题及对策

孙子涵 齐法莲 杜秀敏 徐军 克丙申

摘要 目的:探讨甲胎蛋白(AFP)在 ELISA 检测结果判定中应注意的问题及对策,以提高报告结果的可靠性及准确性。方法:542 例患者首先采用 ELISA 法进行 AFP 定性筛查,检出的阳性及临床怀疑与肝脏有关的阴性患者,采用电化学发光法进行定量测定。结果:542 例患者中,ELISA 法定性检测 AFP 阳性者为 417 例,电化学发光法定量测定阳性者 370 例;125 例阴性患者中有 48 例定量为阳性。结论:对 ELISA 定性检测 AFP 阳性及高度怀疑肝脏病变的阴性患者,建议追加定量分析,以排除假阳性或假阴性结果。

关键词 甲胎蛋白类 酶联免疫吸附测定 电化学发光法

甲胎蛋白(AFP)是哺乳动物胚胎期肝脏卵黄囊合成的一种糖蛋白,是辅助诊断原发性肝癌(HCC)最常用的检测指标。目前检测 AFP 的方法较多,有放射免疫法、荧光免疫法、酶联免疫法、电化学发光法、蛋白质芯片等^[1-2]。ELISA 法定性检测 AFP 以其快速、简便、实效的优势在各级医院应用较广,但 ELISA 法的影响因素较多,有时可出现假阳性或假阴性结果,为使 AFP 检测结果更加准确可靠,我们对 542 例 AFP 标本的定性检测结果进行了分析,报告如下。

1 材料与方法

1.1 检测对象 本院门诊及住院病人,共 542 例,男 370 例,女 172 例,年龄 22~78 岁,均为已知肝占位性病变、肝癌术后或肝胆消化系统疾病及各种肿瘤患者。

1.2 方法 采用 ELISA 一步法,严格按照试剂盒说明书操作,反映终止后用酶标仪比色,标本 OD 值高于阳性判断值(cut-off 值)判为阳性,低于 cut-off 值判为阴性。定量检测采用电化学发光法,高于参考值(7.02 ng/mL)者判为阳性。由于检测方法不同,参考值亦不相同。

为便于分析,根据 ELISA 定性结果分组:AFP 阳

性组 417 例,阴性组 125 例,OD 值处于 cut-off 值周围的标本有 84 例,其中阳性组中有 43 例简称灰区 1 组,阴性组中的 41 例简称灰区 2 组。

1.3 试剂与仪器 ELISA 定性试剂盒由 3V 公司提供,酶标仪是 BIO-RAD680。定量检测使用罗氏 E170 电化学发光分析仪,试剂盒为该公司原装进口产品。

2 结果

ELISA 法定性 AFP 与电化学发光法定量检测比较,阳性组与灰区 1 组的假阳性率为 11.3%[(32+15)/417],阴性组与灰区 2 组的假阴性率为 38.4%[(35+13)/125],结果见表 1。35 例 ELISA 检测阴性电化学发光法定量阳性者的 AFP 含量:8~20 ng/mL 28 例,21~38 ng/mL 3 例,>400 ng/mL 4 例。

表 1 ELISA 法定性与电化学发光法定量检测 AFP 结果比较

AFP定性	例数	AFP定量			
		阳性数	阳性率(%)	阴性数	阴性率(%)
阳性组	(417-43)	342	91.4	32	8.6
灰区 1 组	43	28	65.1	15	34.9
阴性组	(125-41)	35	41.7	49	58.3
灰区 2 组	41	13	31.7	28	68.3

3 讨论

ELISA 测定技术具有灵敏特异、操作简便、试剂稳定的特点,但该实验有一定局限性,影响因素也不容忽视,尤其是进行手工 ELISA 检测时^{[3]8}。AFP 具有相对的肝脏特异性,是目前诊断 HCC 首选的辅助肿瘤标志物,约有 75%的 HCC 患者血清 AFP 水平升高,但仍有 20%~40%的 HCC 患者 AFP 呈阴性^[4-5]。假阳性会给患者及其亲属带来极大的精神压力和经济负担,假阴性则会漏诊,延误患者诊断治疗。阴性结果可能有 3 种情况存在:(1)受检者体内 AFP 含量低,为真阴性;(2)部分 HCC 患者肝细胞分泌 AFP 很低,呈阴性反应,其原因目前尚未明确,有待进一步研究;(3)出现假阴性,原因除了与试剂盒质量、试验操作者、仪器等影响因素有关外,试验结果的分析判断及对可疑标本处理同样有很重要的关系。

本试验通过对 542 例患者 AFP 定性与定量检测结果的比较可看出,ELISA 法定性测定 AFP 有如下特点:该法与电化学发光法相比较阳性符合率为 88.7%,说明该法在对甲胎蛋白定性上准确度比较高,在辅助诊断原发性肝癌及对高危人群的筛选上有较高的应用价值。

由于在 ELISA 定性测定中,cut-off 值的建立是在一定的统计学基础上,相对于某个具体的受检者,可能并不具备正确性^{[3]121},导致处于 cut-off 值附近的结果可靠性一般较差,必须进一步确认。从结果中看出:ELISA 检测 AFP 灰区 1 组中有 15 例电化学发光法定

量阴性,占 34.9%。灰区 2 组有 13 例电化学发光法定量阳性,占 31.7%。因此在 AFP 定性试验中,要十分重视 ELISA 测定中灰区标本的结果判定,对这部分被判为阳性或阴性的患者建议复查,有条件的可做定量分析,防止出现错误报告。

在 48 例阴性组中检出的 35 例定量阳性的标本,其中 28 例含量处于较低的水平,占 80.0%,多数为慢性肝炎、肝硬化、肝腹水等患者,4 例已知肝占位性病变、肝癌术后的患者定量值远远大于 400 ng/mL。若排除分析前与分析中的影响因素后,出现低浓度的假阴性可能与试剂的灵敏度有关,而高浓度时的假阴性可能与我们采用一步法检测 AFP 有一定关系。由于 ELISA 一步法常出现钩状效应,即抗原浓度很高时反应显色反而很浅,表现为测定假阴性^[3]。HCC 患者血清中 AFP 含量悬殊很大,当 AFP 含量高于一定界限时,会出现 HD-HOOK 效应,即原倍孔出现假阴性或假低值现象^[6-7]。避免此现象除了采用两步法外,还要求试验人员在结果判定时应重视患者的临床诊断资料,对肝脏疾病特别是肝癌高危人群定性结果为阴性的患者,可将标本系列稀释测试,有条件者可采用定量分析并进行动态监测,以防止漏检或误诊。

利用 ELISA 法对 AFP 进行定性检测,尽管易出现假性结果,但其以灵敏特异、快速、简便、成本低等优势在中小型基层医院广泛应用,特别是在人群普查、健康查体、良性肝病患者定期检查中起到很好的筛选作用。从本实践总结中可看出,在 ELISA 法定性检测 AFP 时,为了使试验结果准确率最高,除了保证试剂的质量、仪器的最佳状态、操作的规范性等因素外,对其结果的判定是提高试验准确度的最后一关。临界值附近标本的合理处置及高度重视临床信息对肝脏疾病患者予以关注,是实验诊断人员在工作中应加以把握的。

4 参考文献

- [1] Achenbach T, Seifert J K, Pitton M B, et al. Chemoembolization for primary liver cancer [J]. Eur J Surg Oncol, 2002,28(1):37.
- [2] 齐军,车轶群. 使用多肿瘤标志物蛋白质芯片诊断系统检测卵巢肿瘤 [J]. 中华检验医学杂志, 2003,26(6):358.
- [3] 李金明. 临床酶免疫测定技术 [M]. 北京:人民军医出版社, 2005.
- [4] 崔锐. 肿瘤标志物在良性疾病中的浓度观察 [J]. 放射免疫学杂志, 2004,17(2):138.
- [5] 张天洋,徐光炜. 肿瘤学 [M]. 天津:天津科学技术出版社, 1997:1556.
- [6] Fernando S A, Wilson G S. Studies of the "HOOK" effect in the one-step sandwich immunoassay [J]. J Immun Meth, 1992,151(1):47.
- [7] Chan D W, Keixten M, Rook R, et al. Evaluation of monoclonal immunoradiometric assay for alphafeto protein [J]. Clin Chem, 1986,32(7):1318.

(收稿:2006-09-30)